

Untersuchungen über die Brauchbarkeit
der Natriumoleatprobe in der
Tierheilkunde

Werner Hellmeier

Aus der Medizinischen Tierklinik der Tierärztlichen
Fakultät an der Universität München
Vorstand: Professor Dr. K. U l l r i c h

Untersuchungen über die Brauchbarkeit der
Natriumoleatprobe in der Tierheilkunde.



Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der veterinärmedizinischen Doktorwürde der
Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität
München

von
Werner Hellmeier
aus
Allershausen/Bayern

München 1958

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Dekan: Professor Dr. H. L i e b m a n n

Referent: Professor Dr. K. U l l r i c h

Tag der Promotion: 24. Juli 1957

Meinen Eltern
in Dankbarkeit



Digitized by the Internet Archive
in 2026

I n h a l t

Seite:

A. Einleitung	1
B. Literatur	2
C. Material und Methodik	3
I. Material	3
II. Methodik	3
1. Prinzip der Methode	3
2. Reagentien	3
3. Durchführung der Bindungsprobe	4
D. Eigene Untersuchungen	5
I. Zur Methode	5
1. Na-Oleat	5
2. Na-Phosphatlösung	5
3. Erythrozyten als Indikator	5
4. Durchführung des Testes	6
II. Zum Na-Oleattest in der Tiermedizin	8
1. Hunde	8
2. Katzen	13
3. Rinder	14
4. Schafe	14
5. Pferde	15
E. Besprechung der Ergebnisse	16
I. Diskussion der Untersuchungen zur Methode	16
II. Diskussion der Untersuchungen zum Na-Oleattest in der Tiermedizin	18
F. Zusammenfassung	22
G. Literaturverzeichnis	23
Lebenslauf	25

A. Einleitung

Bei den Laboratoriumsuntersuchungen, auf die zur Beurteilung bestimmter krankhafter Veränderungen im Organismus bei Mensch und Tier nicht verzichtet werden darf, gewinnt die Untersuchung des Blutserums hinsichtlich seiner Eiweißfraktionen immer mehr an Bedeutung. Durch die Arbeiten von K. Z I R M und H. A X E N F E L D (4) über eine Bindungsprobe mit Natriumoleat im Serum wurden in der Humanmedizin die Grundlagen für eine neue Untersuchungsmethode geschaffen, die sich an das Serumalbumin wendet. Herr Professor Dr. K. U L L R I C H hat mich nun beauftragt zu untersuchen, ob diese Natriumoleat-Bindungsprobe in der Tierheilkunde Anwendung finden kann, und gegebenenfalls grundlegende Untersuchungen durchzuführen.

B. L i t e r a t u r

Die große Bedeutung des Blutes für die Versorgung der Körperzellen mit Bau-, Betriebs- und Regulationsstoffen sowie für den Abtransport der Stoffwechselendprodukte ist bekannt. Auf Grund der Untersuchungen von H. B E N N - H O L D und Mitarbeiter (1), wie von E. J. C O H N (2) wissen wir, daß die Blutproteine wesentlich an dieser Transportfunktion beteiligt sind. Dabei gehen die zu transportierenden Stoffe mehr oder weniger leicht lösliche Bindungen mit den Serumeiweißstoffen ein. Verschiedene Forscher haben auf das Bindungsvermögen des Serumalbumins hingewiesen und B. D A V I S und R. D U B O S (3) konnten nachweisen, daß 1 Molekül Albumin 9 Moleküle Natriumoleat binden kann. Diese Tatsache und die Fähigkeit des Natriumoleates, gewaschene Erythrozyten (E.) zu hämolysieren, veranlaßten K. Z I R M und H. A X E N F E L D (4) eine methodisch auswertbare Bindungsprobe zu schaffen, die für meine Untersuchungen übernommen wurde und im folgenden Abschnitt eingehend beschrieben ist. Beide Forscher konnten nachweisen, daß für den Reaktionsmechanismus der Probe nur das Serumalbumin entscheidend ist. Dabei war der Ausgang des Testes, der durch die Papierelektrophorese in Bezug auf die Eiweißfraktionen des untersuchten Serums überwacht wurde, von der absoluten Albuminmenge abhängig. Bei einigen Krankheitszuständen, wie z.B. bei Leberparenchymschäden, fanden sie jedoch Probeergebnisse vor, die auf eine starke Verminderung der Albuminrate hätte schließen lassen, obwohl tatsächlich das Albumin kaum vermindert war.

K. Z I R M und R. A X E N F E L D (4) kommen zu dem Schluß, "daß bei positivem Ausfall der Bindungsprobe das Blut an Albumin verarmt ist, oder dieses durch eine Blockierung seiner perzeptiven Stellen am Molekül, funktionell ausgefallen ist".

C. Material und Methodik

I. Material

Für meine Untersuchungen mit dem Test verwendete ich Blutserum gesunder und kranker Haustiere, das innerhalb von 24 Stunden verarbeitet wurde. Besonderer Wert wurde auf die Durchführung des Testes bei Hunden gelegt. Bei einem Teil der Krankheitsfälle standen mir neben den Ergebnissen der einschlägigen Laboratoriumsuntersuchungen auch die Werte der einzelnen Eiweißfraktionen zur Verfügung, die mittels Papierelektrophorese gewonnen wurden. Bei Tieren, die ihre Krankheit nicht überstanden oder aus Gründen des Tiereschutzes getötet werden mußten, wurden pathologisch-anatomische Befunde erhoben.

II. Methodik

1. Prinzip der Methode

Gleichbleibende Mengen von Natriumoleat werden mit fallenden Serumengen vermischt. Mit Hilfe gewaschener Erythrozyten als Indikator wird durch die eingetretene Hämolyse die Serummenge bestimmt, welche nicht mehr in der Lage war, das gesamte vorhandene Natriumoleat zu binden.

2. Reagentien

a) Natriumoleat 1 %ig

"3,14 ccm Ölsäure reinst, womöglich 2 mal destilliert, werden mit 0,4 g Natronlauge und etwa 50 ccm Aqua dest. im Wasserbad bis zur völligen Verseifung etwa 20 Minuten lang erhitzt. Dann wird mit destilliertem Wasser auf 300 ccm aufgefüllt. Diese Lösung ist lange haltbar und wird als Stammlösung zur späteren Verdünnung verwandt." (4)

b) Sekundäre Natriumphosphatlösung, blutisoton, $\text{pH} 8,4$

"7,186 g sekundäres Natriumphosphat ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12 \text{H}_2\text{O}$) werden in 200 ccm destilliertem Wasser gelöst." (4)

c) "Citratblut

wird nach dem Zentrifugieren noch 2 mal mit physiologischer Kochsalzlösung gewaschen und die Erythrozyten mit Kochsalzlösung auf das ursprüngliche Blutvolumen aufgefüllt." (4)

3. Durchführung der Bindungsprobe

"1 ccm der NatriumoleatstammLösung wird mit der blutisotonen sekundären Natriumphosphatlösung auf 30 ccm verdünnt. Von dieser Verdünnung wird, wie aus Tabelle 1 hervorgeht, in jedes der 12 Röhrchen 0,2 ccm pipettiert.

Tabelle 1

Röhrchen	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Na-Oleatlösung (ccm)	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
Serum verdünnt (ccm)	2	1.8	1.6	1.4	1.2	1	0.8	0.6	0.4	0.2	0.1	0.05
Phosphatlösung (ccm)	-	0.2	0.4	0.6	0.8	1	1.2	1.4	1.6	1.8	1.9	1.95

Dann wird das zu untersuchende Serum zugefügt. Zu diesem Zwecke werden 0,3 ccm Serum auf 15 ccm mit der sekundären Natriumphosphatlösung verdünnt und vom 1.- 12. Röhrchen in fallender Menge das verdünnte Serum mit der Natriumoleatlösung vermischt. Mit der Natriumphosphatlösung wird dann jeweils auf 2,2 ccm aufgefüllt.

Nach einmaligem kurzen Durchschütteln der Reihe kommt in jedes Röhrchen 1 Tropfen der gewaschenen Erythrozyten, dann wird nochmals kurz durchgeschüttelt und die Röhrchen in einen Thermostaten von 37° C gestellt.

Abgelesen wird in der Weise, daß jenes Röhrchen, bei welchem eben eine beginnende Hämolyse erkennbar ist, als das 1. positive Röhrchen bezeichnet wird. Wir bezeichnen die beginnende Hämolyse mit +, die weitgehende mit ++ und die komplette Hämolyse mit +++." (4)

D. Eigene Untersuchungen

I. Zur Methode

1. Natriumoleat:

Die nach Vorschrift hergestellte Natriumoleatstammlösung ist mindestens 6 Monate lang voll wirksam, wie Vergleichsversuche mit Stammlösungen verschiedenen Datums der Herstellung zeigten. Eine 1 %ige Lösung, die aus pulverisiertem Natriumoleat, wie es im Handel erhältlich ist, bereitet wurde, erwies sich im Verhältnis zur Testreihe zu konzentriert.

Versuchsanordnung (kleine Reihe, siehe 4a) vom 3.9.1956 mit Serum 144
(Katze, 1 Jahr, o. B.)

Na-Oleat-Stammlösungen (hergest. am)	Testergebnis
1. Na-Oleat-Stammlsg. I (27. 3. 56)	8+
2. Na-Oleat-Stammlsg. IV (30. 8. 56)	8+
3. Na-Oleat-pulv. (1 %ige Lsg.)	1 - 8+

2. Anstelle der sekundären Natriumphosphatlösung wurden einige Reihen vergleichsweise mit physiologischer Kochsalzlösung versehen, ohne daß eine Abweichung im Ergebnis des Testes vorhanden war.

3. Erythrozyten als Indikator

a) Die Versuche zeigten, daß Erythrozyten, die aus Citratblut vom Hund gewonnen wurden, nicht zu verwenden sind. Sie hämolysierten ausnahmslos auch in jenen Röhrchen, in denen die Erythrozyten anderer Tiere keine Hämolysen ergaben, d.h. eine vollkommene Bindung des Na-Oleats an das Serumalbumin anzeigten. Als Indikator für die Probe verwendete ich deshalb Erythrozyten von Schaf- oder Rinderblut, die sich für diesen Zweck als gleichwertig erwiesen. Darüber hinaus kann man bei diesen Tieren große Blutmengen entnehmen. Versuche mit Pferdeerythrozyten ergaben widersprechende Ergebnisse, so daß diese für den Test nicht in Frage kamen.

Versuchsanordnung (kleine Reihe) vom 13. 4. 1956 mit Serum 15
(Dt. Kurzhaar, Rüde, 2 Jahre, nerv. Staupe)

Indikator	Testergebnis
1. E. v. Hammel	7/8+
2. E. v. Hund (wie S. 11)	1-8+
3. E. v. Rind	7/8+
4. E. v. Pferd	7/8+
5. E. v. Pferd	5-8+

b) Ferner erwies es sich als vorteilhaft, wenn das steril entnommene Blut, das im Verhältnis 10 : 1 mit einer 3,8 %igen Na-Citratlösung zwecks Gerinnungshemmung vermischt wurde, fest verschlossen im Entnahmegefäß bei Kühl-schranktemperatur zwischen +3 C bis +5 C aufbewahrt wurde. Unter diesen Vor-aussetzungen waren die Erythrozyten bis zu 8 Tagen als Indikator verwendbar.

c) Aus dem so vorbereiteten Blut wurde dann kurz vor dem Gebrauch die benö-tigte Menge Erythrozyten mit physiologischer Kochsalzlösung nach dem Zentri-fugieren gewaschen. Dabei wurde unter allen Umständen so oft gewaschen, bis nach dem jeweiligen Zentrifugieren (3000 Umdrehungen/min - 3 Minuten lang) der Überstand im Zentrifugenglas völlig farblos und durchsichtig war. Nun wur-den die gewaschenen Erythrozyten mit physiologischer Kochsalzlösung im Ver-hältnis 1 : 4 verdünnt, da mit dieser Verdünnung eine besonders günstige Dich-te der Erythrozyten für das Ablesen des Testergebnisses erreicht schien. So gewaschene und verdünnte Erythrozyten wurden für spätere Verwendung verschie-dentlich 24 Stunden bei Zimmertemperatur gelagert. Sie wurden dann vor dem Ge-brauch noch einmal gewaschen.

4. Durchführung des Testes

a) Auf Grund der Testergebnisse, die im Punkt II dieses Abschnittes näher be-handelt werden, kam ich zu dem Schluß, daß die 12 Röhrchen einer Testreihe (siehe Tabelle 1) in der Tiermedizin auf 8 Röhrchen beschränkt werden können,

ohne daß der Wert der Probe beeinflußt wird. Ich habe also bei der Anordnung der Reihe die ersten und letzten beiden Röhrchen, d.h. Röhrchen 1, 2, 11 und 12 weggelassen und die in Tabelle 2 dargestellte Anordnung verwendet.

Tabelle 2

Röhrchen	1	2	3	4	5	6	7	8
Na-Oleatlösung (ccm)	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
Serum verdünnt (ccm)	1,6	1,4	1,2	1	0,8	0,6	0,4	0,2
Phosphatlösung (ccm)	0,4	0,6	0,8	1	1,2	1,4	1,6	1,8

b) Das Abmessen der verschiedenen Mengen der einzelnen Testflüssigkeiten in den Röhrchen (siehe Tabelle 2) erfordert einen gewissen Zeitaufwand. Ich konnte diese Zeitspanne dadurch etwas verkürzen, daß ich die Na-Phosphatlösung lediglich nach dem Augenmaß aus einer 10 ml Pipette eintropfen ließ, um auf das Flüssigkeitsvolumen der Röhrchen von ca. 2,2 ccm zu kommen. Diese Ungenauigkeit hatte keinen Einfluß auf den Probenausgang, wie Vergleichsreihen mit genauen Abmessungen der Na-Phosphatlösung bekräftigten.

c) Um ferner zu überprüfen, ob für den Hämolysevorgang in den positiven Röhrchen eine Temperatur von 37° C notwendig wäre, setzte ich von 2 analogen Testreihen, jede einer anderen Temperatur aus. Die eine Reihe stellte ich bei gleichbleibender Temperatur von 37° C (Thermostat), die andere bei einer Temperatur von ca. 18° C (Zimmer) auf. Beide Reihen hatten nach 5 Stunden das gleiche Ergebnis der Probe, d.h. bei beiden Reihen waren die Erythrozyten der analogen Röhrchen einer Hämolyse anheimgefallen. Diese Feststellung konnte bei allen ähnlichen Versuchen getroffen werden.

d) Das Ablesen des Probenausganges macht einige Schwierigkeit und ist von der Fähigkeit des Einzelnen, geringste Farbunterschiede feststellen zu können, abhängig. Um hier von vornherein die nötige Klarheit zu schaffen, bezeichnete ich beim Ablesen jenes Röhrchen als das erste positive, bei dem mit größter Sicherheit eine Hämolyse erkennbar war (rötlich gefärbt und durchsichtig). Diesbezügliche Messungen mit einem Eppendorf -Photometer ergaben Durchlässigkeitsunterschiede bis zu 25 % zwischen dem letzten negati-

ven und ersten positiven Röhrchen. Eine Trennung in 3 Hämolysegrade (eingetretene, weitgehende und komplette) wurde nicht beibehalten, da sie für die Beurteilung des Ergebnisses im Grunde keine Rolle spielt.

II. Zum Natriumoleatstest in der Tiermedizin

Auf Grund der mir gestellten Aufgabe versuchte ich die Normalwerte des Testes durch die Serumuntersuchung klinisch gesunder Tiere zu finden. Sodann wendete ich den Test wahllos bei verschiedenen Krankheiten an, um Grundlegendes über den Ausgang der Probe bei pathologischen Fällen aussagen zu können.

Der Übersicht halber erscheint es mir nun zweckmäßig, die hier in Frage kommenden Versuchsergebnisse getrennt nach Tierarten wiederzugeben.

1. Hunde

a) Normale Fälle: Die Durchführung des Testes an 10 klinisch gesunden Hunden (siehe Tabelle 3) ergab in 9 Fällen eine Hämolyse im 7. und 8. Röhrchen, in einem Fall eine Hämolyse in den letzten drei Röhrchen(6., 7. und 8.).

Tabelle 3

Lfd. Nr.	Rasse, Alter, Geschlecht	Tester- gebnis	Ges.-Eiweiß g-% CuSO ₄ -Methode	Albumin % Papierelektro- phorese
1	Dt. Kurzhaar Rüde, 9 Monate	7/8+	-	-
2	Dt. Schäferhund Rüde, 9 Jahre	7/8+	-	-
3	Bastard Hündin, 1 1/2 Jahre	7/8+	-	-
4	Kerry-Blue-Terrier Hündin, 6 Monate	7/8+	6,78	41,4

5	Schäferhund Rüde, 6 Monate	6-8+	7,0	40,1
6	Schäferhund Rüde, 6 Monate	7/8+	-	-
7	Schäferbastard Hündin, 1 Jahr	7/8+	-	-
8	Dachshund Hündin, 1 Jahr	7/8+	6,9	44,2
9	Engl. Setter Rüde, 1 1/2 Jahre	7/8+	7,5	45,1
10	Engl. Setter Hündin, 2 Jahre	7/8+	-	-

b) Pathologische Fälle: Bei den von mir untersuchten pathologischen Fällen handelte es sich um stationäre Patienten der Medizinischen Tierklinik, bzw. um Patienten, die während der Sprechstunden dieses Institutes untersucht und behandelt wurden. Es wurde zum Teil einmalig, zum Teil in verschiedenen langen Abständen Blut entnommen. Soweit möglich geschah dies kurz nach der Einstellung in die Klinik zum ersten Mal und kurz vor der Entlassung bzw. kurz vor dem Tode zum letzten Mal.

In der folgenden Tabelle 4 sind die einzelnen Untersuchungen geordnet nach Krankheitsgruppen zusammengefaßt.

Tabelle 4

Lfd. Nr.	Rasse Alter Geschlecht	Diagnose (Tag)	Testergebnisse (Ges.-Eiweiß g-%/Alb.%)	Bemerkungen
1	Deutsch. Kurzhaar Rüde, 2 J.	Nervöse Staupe (18.2.56)	13.4. 7/8+ 19.4. 7/8+ (4,7/47,3) (16.4.56)	gebessert entlassen
2	Dachshund Rüde, 4 J.	Staupe catarrh. (16.4.56)	19.4. 2-8+ (5,0/35,8) 24.4. 4-8+ 26.4. 6-8+ 30.4. 6-8+	gebessert entlassen

3	Dachshund Hündin, 2 J.	Staupe catarrh. (18.4.56)	19.4. 3-8+ (5,4/37,2)	gebessert
			24.4. 6-8+ (4,7/34,4)	entlassen
			26.4. 5-8+	
			30.4. 7/8+	
4	Kerry-Blue Terrier Rüde, 6 Mon.	Nervöse Staupe (20.4.56)	20.4. 3-8+	geheilt
			23.4. 7/8+ (4,7/43,4)	entlassen
			26.4. 7/8+	
5	Schäferhund Rüde, 6 Mon.	Staupe catarrh.	1.6. 6-8+ (6,1/49,5)	gebessert
			5.6. 5-8+ (5,8/43,7)	entlassen
6	Engl. Setter Hündin, 3 J.	Lungen- staupe	1.6. 6-8+ (7,6/45,1)	gebessert
			5.6. 6-8+ (7,2/36,2)	entlassen
			7.6. 5-8+ (6,7/39,0)	
			11.6. 6-8+ (6,8/42,2)	
7	Dachshund Hündin 6 J.	Nervöse Staupe	6.6. 6-8+	getötet, Sektions-
			8.6. 7/8+ (6,7/46,2)	befund: Stauungs-
			12.6. 5-8+ (6,5/49,2)	blutfülle d. ges. parenchymat.Organe, Lungenödem m. peri- vaskulärem Rand- emphysem.
8	Spaniel Rüde 5 Mon.	Nervöse Staupe	11.6. 5-8+ (5,9/63,4)	getötet, Sektions- befund: Katarrh. eitrige multilobu- läre Bronchopneumo- nie, pulpöse Milz- hyperplasie, Gastro- enteritis diff. act. Stauungsleber
9	Schäfer- hund Rüde 9 Mon.	Nervöse Staupe	9.7. 5-8+ (6,7/57,8)	gestorben, Sektions- befund: Atrophie d. Kaumuskulatur, Hyper- plasie d. Mesenterial- lymphknoten, Staupe- encephalitis.

10	Schäfer- hund Hündin, 2 J.	Nervöse Staupe	3.7. 6-8+ (7,7/44,9)	gebessert entlassen
11	Schäfer- hund Rüde 3 J.	Toxo- plasmose	25.5. 3-8+ (8,3/26,9) 29.5. 4-8+ (7,6/24,8) 4.6. 6-8+ (7,2/33,4) 8.6. 6-8+ (6,8/32,6) 12.6. 6-8+ (7,2/33,1) 2.7. 7/8+	gebessert entlassen
12	Schäfer- hund Rüde 1 J.	Toxo- plasmose	25.5. 5-8+ (7,2/28,2) 29.5. 4-8+ (6,5/29,8) 4.6. 4-8+ (6,5/28,7) 8.6. 5-8+ (6,8/30,3)	nicht geheilt entlassen
13	Langhaar- dackel Rüde, 1 J.	Toxo- plasmose	11.6. 5-8+ (6,7/36,6) 18.6. 6-8+ (6,5/31,0)	geheilt entlassen
14	Fila Brasil. Rüde 2 J.	Toxo- plasmose	14.6. 6-8+ (7,2/36,8) 20.6. 5-8+ (2,7/41,7) 26.6. 5-8+ (5,8/44,5) 2,7. 6-8+ (6,8/43,9)	geheilt entlassen
15	Fila Brasil. Hündin 1 J.	Toxo- plasmose	14.6. 6-8+ (6,1/34,0) 20.6. 5-8+ (6,5/34,8) 26.6. 6-8+ (5,8/49,8) 2.7. 5-8+ (6,5/42,3)	geheilt entlassen
16	Schäfer- hund Rüde, 7 J.	Nephri- tisver- dacht (20.4.56)	20.4. 7/8+ 21.4. 7/8+	geheilt entlassen (22.4.56)
17	Boxer Rüde 7 J.	Nephri- tis (24.4.56)	25.4. 5-8+ 28.4. 5-8+ 30.4. 6-8+ 15.5. 7/8+ 20.5. 7/8+	geheilt entlassen (23.5.56)

18	Boxer Rüde	Nephritis (24.4. RN 100mg%)	25.4. 6-8+ 27.4. 6-8+	gebessert entlassen
19	Rottweiler Rüde 8 J.	Urämie (27.4. RN 200mg%)	27.4. 4-8+	getötet
20	Schäferhund Rüde 4 1/2 J.	Nephritis + Cystitis	8.5. 3-8+ 10.5. 3-8+ 14.5. 6-8+ 15.5. 6-8+	gebessert entlassen
21	Schäferhund Rüde, 3 J.	Nephritis	30.5. 2-8+	nicht gebessert entlassen (30.5.56)
22	Wachtelhund Rüde, 2 J.	Thalliumvergiftung	2.7. 4-8+ (8,28/27,22)	-

Im folgenden sollen noch 2 Fälle Erwähnung finden, bei denen im Abstand von ca. 2 Tagen jeweils morgens Blut entnommen wurde, wobei gleichzeitig eine Allgemeinuntersuchung stattfand:

Fall 1) Schäferbastard, 1 1/2 Jahre, Rüde, B. Nr. 40/56.

Aufnahme: 17.4.56

Entlassen: 3.5.56 - geheilt

Diagnose: Bronchopneumonie

Allg. Untersuchung: (17.4.56) Conjunktiven gerötet, eitriger Nasenausfluß, Lungendämpfungen, verschärftes Atmen mit Rasselgeräuschen, Puls fadenförmig, Herztöne schwach, T 39,9° C.

Behandlung: Antibiotika, Kreislaufmittel, Aerosol-Behandlung.

Tag d. Testung	Ergebnis	Ges.-Eiweiß/Albumin		Bemerkungen Allg.-Zustand
		g-%	%	
19.4.56	2-8+	4,86/36,10		schlecht
20.4.56	5-8+	5,04/27,13		sehr schlecht
24.4.56	5-8+	-		sehr schlecht
26.4.56	6-8+	-		leicht gebessert
30.4.56	7/8+	7,02/44,18		gut
2.5.56	7/8+	-		sehr gut
3.5.56	7/8+	-		sehr gut

Fall 2) Spaniel, 5 Monate, Rüde, B. Nr. 48/56

Aufnahme: 22.4.56

Entlassen: 2.5.56 - gestorben

Diagnose: Hard-pad-Krankheit

Allg. Untersuchung (22.4.56): Abgemagert, leicht blutende, schmutzige Ballen, Staupepusteln, eitriger Nasen- und Augenausfluß, T. 39,7° C.

Behandlung: Antibiotika, Kreislaufmittel usw.

Sektionsbefund: Katarrhalisch-eitrige Bronchopneumonie, Verhärtung der Ballen, pulpöse Milzhyperplasie, Myodegeneratio cordis, geringgradiger Askaridenbefall.

Tag d. Testung	Ergebnis	Ges.-Eiweiß/Albumin		Bemerkungen Allg.-Zustand
		g-%	%	
22.4.56	3-8+	-		schlecht (T 39,7° C)
23.4.56	3-8+	4,32/48,94		schlecht (T 39,0° C)
26.4.56	2-8+	-		schlecht (T 39,3° C)
28.4.56	2-8+	-		schlecht (T 40,1° C)
30.4.56	2-8+	-		schlecht (T 39,4° C)
2.5.56	gestorben			

2. Katzen

Für meine Untersuchungen mit Katzen standen mir 9 völlig gesunde männliche und weibliche Tiere verschiedenen Alters zur Verfügung. Das mittels Herzpunktion gewonnene Serum ergab bei 8 Tieren gleichmäßig eine Hämolyse im 8. Röhrchen. Eine Katze (weiblich, 2 Jahre, trächtig) wurde mit Thiogental-Merk

i. p. (400 mg) in Narkose gelegt und anschließend mit Chloralhydrat i. p. (20 ccm - 20 %ig) getötet. Das kurz vor dem Tode durch Herzpunktion gewonnene Serum zeigte eine deutliche Linksverschiebung (5 - 8+), obwohl das Tier vorher nicht klinisch erkrankt war. Die path.-anat. Sektion ergab ebenfalls keinen Anhaltspunkt für eine vorhanden gewesene Erkrankung.

3. Rinder

a) Normale Fälle: Zur Feststellung des Normalwertes der Probe bei Rindern prüfte ich wiederholt die Seren 5 gesunder Kühe. Bei all diesen Fällen trat eine Hämolyse im 7. Röhrchen ein, so daß also die letzten beiden Röhrchen einer Reihe hämolytisch waren.

b) Pathologische Fälle: Um den Ausgang des Testes bei einigen Rinderkrankheiten kennen zu lernen, führte ich den Test bei folgenden Krankheitsfällen durch:

1. Kuh, 13 Jahre, Pinzgauer
Diagnose: Bronchopneumonie
Testergebnis: 3-8+
2. Fleckviehkuh, 5 Jahre
Diagnose: Nephritis (path.-anat. bestätigt)
Testergebnis: 1-8+
3. Fleckviehkuh, 4 Jahre
Diagnose: Kryptogenetische Sepsis, Kachexie, Leberegelbefall
Testergebnis: 1-8+
4. Fleckviehrind; 2 Jahre, klinisch o.B.
Diagnose (path.-anat.): Chronische Lungentuberkulose
Testergebnis: 7/8+

4. Schafe

a) Normale Fälle: Bei 6 klinisch gesunden Schafen ergab die Oleatprobe in einem Fall eine Hämolyse im 5., in 2 Fällen eine Hämolyse im 6. und in 3 Fällen eine Hämolyse im 7. Röhrchen. Alle Tiere wurden kurz nach der Blutentnahme im Schlachthof München geschlachtet und ihr Fleisch + Organe als tauglich beurteilt.

b) Pathologische Fälle: Untersucht wurden 2 Schafe (1 und 1 1/2 Jahre) mit hochgradiger Kachexie sowie hoch- bis mittelgradigem Parasitenbefall (Lungenwürmer, Leberegel und Magenwürmer). In beiden Fällen waren alle Röhrchen der Reihe positiv (1-8+). Beide Tiere wurden einen Tag nach der Blutentnahme geschlachtet.

5. Pferde

Die Normalwerte des Testes bei Pferden wurden mit 8 Serumproben ermittelt, die von gesunden Pferden stammten. Bei 7 Tieren war das Ergebnis 5-8+, bei einem 6-8+. Pathologische Fälle wurden nicht untersucht.

In der folgenden Tabelle sind die Testergebnisse von gesunden Tieren zusammengefaßt:

Tabelle 5

Tierart	Getestete Tiere	Testergebnis (Tierzahl)
Hund	10	7/8+ (9) 6-8+ (1)
Katze	9	8+ (8) 5-8+ (1)
Rind	5	7/8+ (5)
Schaf	6	7/8+ (3) 6-8+ (2) 5-8+ (1)
Pferd	8	5-8+ (7) 6-8+ (1)

E. Besprechung der Ergebnisse

Die Untersuchungsergebnisse zeigen, daß der Natriumoleat-Test in der Tiermedizin durchaus anwendbar ist und daß die für die Untersuchung menschlichen Serums angegebenen Verdünnungen auch für die Durchführung des Testes an Tierseren beibehalten werden können. Die Probe kann zur Beurteilung des Schweregrades und zur Prognose bei Krankheiten herangezogen werden.

I. Diskussion der Untersuchungen zur Methode

Grundsätzlich kann gesagt werden, daß die Durchführung des Testes nicht an ein Institut oder an eine Klinik gebunden ist. Die für die Durchführung benötigten Flüssigkeiten können mit geringen Mitteln selbst hergestellt werden. Lediglich die Erythrozyten (Schaf oder Rind) sind jeweils nur bis zu 8 Tagen als Indikator verwendbar. Ihre Aufbereitung ist an eine Zentrifuge, die 3000 Umdrehungen in der Minute schafft, gebunden. Eine Zentrifuge ist jedoch nicht nur für die schnelle Serumgewinnung, sondern auch für andere Laboratoriumsuntersuchungen Voraussetzung. Überdies werden gewaschene Hammelblutkörperchen von der Industrie angeboten, deren Verwendbarkeit allerdings auch zeitlich beschränkt ist.

Um das Probeergebnis nicht zu verfälschen, ist es notwendig, daß der Überstand der gewaschenen Erythrozyten nicht mit Hämoglobin verunreinigt ist, das von weniger widerstandsfähigen, durch den Gewinnungsprozeß geschädigten Blutkörperchen herrührt. Dies wird durch mehrmaliges Waschen der Erythrozyten verhindert. Selbstverständlich müssen alle Substanzen, die die Erythrozyten schädigen (z.B. Alkohol - zur Desinfektion von Kanülen in der Praxis viel verwendet), von diesen ferngehalten werden. Ferner ist zu beachten, daß die gewaschenen Erythrozyten mit physiologischer Kochsalzlösung im Verhältnis 1 : 4 zu verdünnen sind, da bei zu großer Dichte der Erythrozyten die Hämolyse in den Röhrchen durch das ausgetretene Hämoglobin gehemmt wird. Der Zeitaufwand für die Vorbereitung der Testreihe wird durch die Verkleinerung der Reihe auf 8 Röhrchen etwas verkürzt. Mit diesen 8 Röhrchen werden bei den angegebenen Konzentrationen und Abmessungen der Reagentien alle normalen und pathologischen Fälle der untersuchten Tierseren erfaßt.

Die Hämolyse in den positiven Röhrchen kommt, wie früher bereits erwähnt, durch das nicht an Serumalbumin gebundene Na-Oleat, das die Erythrozyten aufzulösen vermag, zustande. Es sind daher alle Faktoren, die zusätzlich eine Hä-

molyse auslösen können, zu vermeiden. Zu diesen Faktoren zählen auch Wärme und Kälte. In dieser Hinsicht zeigten die von mir verwendeten Erythrozyten allerdings eine beachtliche Resistenz, so daß die Testreihe für den Hämolysevorgang nicht auf eine Temperatur von 37°C angewiesen ist. Man kann die Reihe bei Zimmertemperatur aufstellen; ein Thermostat wird also für diesen Zweck nicht benötigt. Wesentlich ist jedoch, daß ständige größere Temperaturschwankungen während der Zeit vom Einbringen der Erythrozyten in die Röhrchen bis zum Ablesen der Ergebnisse (4 - 5 Stunden) vermieden werden, da die Erythrozyten durch häufige Temperaturschwankungen in ihrer Resistenz beeinträchtigt werden.

Was das Ablesen des Testergebnisses betrifft, so erscheint es mir unumgänglich, daß sich jeder Untersucher die Normalwerte des Testes bei den für ihn in Frage kommenden Tieren selbst erarbeitet, um daraufhin pathologische Ergebnisse beurteilen zu können. Die Beurteilung einer Hämolyse kann in diesem Fall nur subjektiv sein. Die von mir getroffene Feststellung (siehe Abschnitt "Eigene Untersuchungen zur Methode") bietet aus diesem Grunde ebenfalls keine Gewähr für eine allgemeine Übereinstimmung. Wie weit hier die Ansichten auseinandergehen, konnte ich jedesmal beobachten, wenn ich ein Testergebnis von mehreren Personen beurteilen ließ. Daher dürften auch die erheblichen Abweichungen im Ausfall der Probe zu erklären sein, die zwischen M. P O N - C E T (4) und mir vorhanden sind. So z.B. fand dieser bei einem Serum vom Menschen mit einem Eiweißgehalt von 7,56 g-%, davon 40 % Albumin, eine Hämolyse im 4. Röhrchen oder übertragen auf die von mir verwendete Reihe im 2. Röhrchen. Demgegenüber ergab bei mir ein Serum vom Hund mit ähnlichen Verhältnissen in Bezug auf Gesamteiweiß und Albumin (Ges.-Eiweiß 7,56 g-% und 45,22 % Albumin) eine Hämolyse im 7. Röhrchen. Diese erhebliche Abweichung könnte zum Teil auch dadurch begründet sein, daß das oben erwähnte Serumalbumin vom Menschen aus krankhaften Ursachen gegenüber Na-Oleat weniger bindungsfähig war. Oder sollte die gleiche Serumalbuminmenge von Tieren mehr Na-Oleat binden können, als dies bei analogen Albuminmengen von Menschenserum der Fall ist? Dies dürfte aber unwahrscheinlich sein. Jedoch müssen diesbezüglich eventuelle Abweichungen berücksichtigt werden, die bei der Bestimmung des Gesamteiweißes im Serum und vor allem bei der Festlegung dessen Eiweißfraktionen auftreten können.

II. Diskussion der Untersuchungen zum Na-Oleat-Test in der Tiermedizin

Durch die eingehenden Untersuchungen von K. Z I R M und H. A X E N - F E L D (4) ist bewiesen, daß für den Ausgang der Probe einerseits die absolut vorhandene Menge Albumin ausschlaggebend ist und andererseits die Tatsache, inwieweit dieses Albumin gegenüber Na-Oleat bindungsfähig ist. Unter diesen Gesichtspunkten sollen die, bei den vor mir untersuchten Tierarten, erhaltenen Normalwerte betrachtet werden. Dabei wird zugrunde gelegt, daß die selbst gefundenen bzw. die in der einschlägigen Literatur angegebenen Werte der Eiweißfraktionen von gesunden Tieren, völlig bindungsfähiges Albumin aufweisen.

Bei 8 von mir untersuchten Hundeseren, die normale Testwerte ergaben (siehe auch Tabelle 5), wurden Gesamteiweißwerte zwischen 4,7 g-%/43,4 % Albumin und 7,5 g-%/45,1 % Albumin gefunden. Diese Feststellung, daß in den erwähnten Fällen trotz unterschiedlicher Werte bezüglich Gesamteiweiß und Albumin, ohne Ausnahme eine Hämolyse im 7. und 8. Röhrchen der Reihe beobachtet wurde, bedarf einer Erklärung, die sich bei den im Rahmen meiner Aufgabe durchgeführten Untersuchungen nicht erkennen ließ.

Aus der Tabelle K r ü g e r s sind folgende Werte für Gesamteiweiß und Albumin zu entnehmen (5):

Hund	7,07 g-%/81,4 % Albumin
Katze	8,42 g-%/69,6 % Albumin
Rind	7,50 g-%/70,9 % Albumin
Schaf	6,59 g-%/82,5 % Albumin
Pferd	8,10 g-%/56,8 % Albumin

Hieraus errechnete ich die Albuminwerte bezogen auf 100 Maßeinheiten Blutserum. Diese Werte sind in folgender Darstellung den Testergebnissen der Tabelle 5 gegenübergestellt:

Tierart	Albumin (Einheit-%)	Testergebnisse (lt. Tab. 5)
Hund	5,8	7/8+
Katze	5,9	8+
Rind	5,3	7/8+
Schaf	5,5	7/8+6-8+ 5-8+
Pferd	4,6	5-8+ 6-8+

Obwohl die hier angegebenen Albuminwerte etwas hoch erscheinen, so sind sie trotzdem für den angestellten Vergleich brauchbar, da bei einem derartigen

Vergleich nicht die absoluten Albuminwerte von Bedeutung sind, sondern das Verhältnis der Albuminwerte zwischen den einzelnen Tierarten.

Auf Grund des oben dargestellten Vergleiches dürften die unterschiedlichen Testergebnisse bei den untersuchten Tierarten, wie sie in Tabelle 5 zusammengefaßt sind, zu erklären sein.

Was die unterschiedlichen Testwerte zwischen den untersuchten klinisch gesunden Schafen betrifft, so dürften vermutlich jene, bei denen eine Linksverschiebung in der Testreihe zu beobachten war, mit Parasiten behaftet gewesen sein. Tatsächlich werden bei Schafen durch parasitologische Untersuchungen nicht selten Parasiten nachgewiesen, ohne daß ein derartiger Befall (geringgradig) klinisch oder grob anatomisch in Erscheinung tritt. Dazu kommt noch, daß in unserer Gegend relativ häufig bei Schafen Parasitenbefall beobachtet wird und die Tatsache, daß bei 2 Schafen, die an hochgradiger Parasiteninvasion erkrankt waren, sämtliche Röhrchen der Reihe positiv reagierten. Allerdings waren diese beiden Krankheitsfälle rein klinisch durch eine weitgehende Kachexie gekennzeichnet.

Schließlich muß in diesem Zusammenhang das Ergebnis der Serumuntersuchung der früher erwähnten Katze betrachtet werden, bei der das Blut in Thiogenal- und Choralhydratnarkose kurz vor dem Tode entnommen wurde. Man ist versucht, die deutliche Linksverschiebung der Reihe mit dem erheblichen pharmakologischen Eingriff zu erklären. Diesbezügliche Versuche, die Herr Professor Dr. K. U L L R I C H durchführen läßt, konnten dies jedoch bis heute nicht bestätigen. Demnach müßte der Testbefund auf eine krankhafte Verschiebung der Eiweißfraktionen zurückzuführen sein, die sowohl der klinischen als auch der pathologisch-anatomischen Untersuchung verborgen blieb. Inwieweit die vorhanden gewesene Trächtigkeit für die erwähnte Verschiebung der Albumin-Globulin-Fraktionen verantwortlich zu machen wäre, entzieht sich meiner Kenntnis.

Im folgenden sollen nun die Krankheitsfälle bei Hunden im Hinblick auf das Ergebnis der Na-Oleatprobe betrachtet werden:

Bei 72 Serumuntersuchungen von 23 Hunden mit verschiedenen Krankheiten (Staupeformen; Toxoplasmose, Nephritis und Bronchopneumonie) waren in der Mehrzahl gleichlautende Ergebnisse festzustellen. Zunächst war eine Linksverschiebung der Reihe vorhanden, die sich mit zunehmender Besserung der klinischen Symptome der Patienten verhältnismäßig früh normalisierte. Hier war bei den in Frage kommenden Fällen besonders die Feststellung interessant, daß sich der Test durchschnittlich 1 Tag früher zum Normalen hin bewegte,

als dies das Allgemeinbefinden der Patienten hätte annehmen lassen. In den Fällen, bei denen die Patienten ihre Krankheit nicht überstanden oder frühzeitig von ihren Besitzern trotz schlechten Allgemeinbefindens aus der Behandlung genommen wurden, war eine mehr oder weniger deutliche Linksverschiebung der Testreihe vorhanden.

Besonders bemerkenswert erscheinen mir aber 2 Fälle mit nervöser Staupe zu sein (Tabelle 4, Lfd. Nr. 9 und 10), die beide analog den Krankheitssymptomen eine Linksverschiebung um 2 Röhrchen zeigten, obwohl im Gegensatz zu allen anderen Serumuntersuchungen der übrigen Krankheitsfälle eine Hyperalbuminämie papierelektrophoretisch nachgewiesen wurde. Diese beiden Fälle lassen sich in Bezug auf das Testergebnis mit Zirm und Axenfeld (4) höchstens insoweit erklären, als ein Teil des nachgewiesenen Albumins funktionell ausgefallen sein konnte. Damit ist jedoch die Hyperalbuminämie selbst nicht geklärt.

Die Linksverschiebung der Testreihe bei dem mit Thallium vergifteten Hund (Tabelle 4, Lfd. Nr. 22) stimmt mit der festgestellten Hyperalbuminämie überein. Diese kann durch eine gestörte Leberfunktion erklärt werden, da ja bekanntlich das Serumalbumin in der Leber gebildet wird.

Dadurch erklären sich auch die pathologischen Testergebnisse der beiden untersuchten Schafe (siehe "Eigene Untersuchungen zum Na-Oleatetest", Abschnitt 4, b), bei denen path.-anatomisch Leberveränderungen nachgewiesen wurden, die aus einem Leberegelbefall resultierten.

Die übrigen untersuchten Krankheitsfälle, bei denen ebenfalls eine Linksverschiebung in der Testreihe festzustellen war, wurden notiert. Da es sich aber hier einerseits um Einzeluntersuchungen handelt, andererseits die entsprechenden Albuminwerte nicht zur Verfügung standen, sollen diese mangels Vergleichsmöglichkeiten nicht näher erörtert werden.

Lediglich ein Fall mit chronischer Lungentuberkulose beim Rind (siehe dort) scheint noch erwähnenswert, bei dem trotz weitgehender tuberkulöser Veränderungen der Lunge ein normales Testergebnis erzielt wurde.

Abschließend kann gesagt werden, daß der Na-Oleatetest in der Tiermedizin auf breiter Basis anwendbar ist. Der Test gibt dabei Auskunft über die absolute bzw. "funktionelle" Serumalbuminmenge bei gesunden und krankhaft veränderten Organismen. Ausgehend von den Normalwerten des Testes, die jeweils durch die Reihenuntersuchung gesunder Tiere gefunden wurden, können gestörte Albumin-Globulinverhältnisse im Serum erkannt werden. Sehr viele Krankheiten

gehen mit einer Erhöhung von Globulinfractionen einher, die in den meisten Fällen auf Kosten der Albumine geht. All diese Fälle werden mit dem Na-Oleat-test erfaßt. Dabei werden die einzelnen Stufen der Normalisierung des Albumin-Globulinverhältnisses durch den Test ebenso angezeigt, wie eine diesbezügliche Verschlechterung. Diese Änderung des Albumin-Globulin-Quotienten wird bereits vor dem Auftreten der entsprechenden klinischen Erscheinungen offensichtlich. Darin ist der prognostische Wert der Methode besonders begründet.

Zweifelsohne ist die Globulinzunahme im Serum im Krankheitsfalle Ausdruck einer Abwehrreaktion des Organismus, wobei dieser auf die verschiedensten Noxen in derselben Weise, nämlich mit Globulinzunahme, zu reagieren scheint. Es drängt sich hierbei die Frage auf, ob man nicht versuchen sollte, den Organismus bei dieser Abwehrreaktion zu unterstützen. Ich denke dabei an eine Substitution der Eiweißfraktionen, die vom Organismus durch vermehrte - zum Teil vielleicht unzureichende - Zubildung gefordert werden und auch jener, die durch diesen Um- oder Neubildungsprozeß in Mitleidenschaft gezogen werden. Die therapeutische Verabreichung von Plasma oder Proteinhydrolysaten dürfte hier besonders indiziert sein.

Schließlich sei noch hervorgehoben, daß der Na-Oleat-test gegenüber den zahlreichen anderen Eiweißlabilitätsproben besonders wertvoll erscheint, da die Ergebnisse weit besser objektivierbar sind, trotz individuell bedingter Beurteilung des Beginns der Hämolyse.

Auch dürfte die Na-Oleatprobe in der diagnostischen Methodik der Leberparenchymschäden praktische Bedeutung erlangen.

F. Zusammenfassung

1. In vorliegender Arbeit werden die Ergebnisse beschrieben und diskutiert, die mit der Na-Oleatprobe bei Serumuntersuchungen gesunder und kranker Tiere erzielt wurden.
2. Die bei der Durchführung des Testes bezüglich der Methode aufgetretenen Fragen wurden, so weit als möglich, gelöst.
3. Es wurde versucht, die zur Beurteilung krankhafter Befunde notwendigen Normalwerte für Hunde, Katzen, Rinder, Schafe und Pferde zu finden.
4. Von 30 Krankheitsfällen verschiedener Genese, die bei 3 Tierarten (Hund, Rind und Schaf) mit der Oleatprobe untersucht wurden, zeigten 27 eine Linksverschiebung der positiven Röhrchen ihrer Testreihe an. Bei den übrigen 3 Fällen handelte es sich um
 - a) einen Hund (nervöse Staupe), bei dem die Serumuntersuchung 2 Monate nach der Diagnosestellung durchgeführt wurde,
 - b) einen Hund (Nephritisverdacht = Wahrscheinlichkeitsdiagnose) und
 - c) ein Rind (chronische Lungentuberkulose).
5. Bei 18 Hunden mit verschiedenen Krankheiten wurde der Krankheitsverlauf mittels der Probe verfolgt, mit dem Ergebnis, daß sich der Testbefund analog dem Allgemeinbefinden der Patienten ändert.
6. Bei 44 Testuntersuchungen mit teils normalem, teils pathologischem Ergebnis standen gleichzeitig die Werte für Gesamteiweiß und Albumin im Serum zur Verfügung. Ein Zusammenhang dieser Werte mit den jeweiligen Testergebnissen ließ sich jedoch nicht in jedem Fall erkennen.

G. L i t e r a t u r v e r z e i c h n i s

1. Bennhold, H.: Über die Vehikelfunktion der Serumeiweißkörper.
Ergeb. inn. Med. 42, 273 (1932)
2. Cohn, E.J.: The preservation of formed elements and of the
proteins of blood.
Boston, Mass., Harvard Medical School 1949
3. Davis, B. u. Dubos, R.: Arch. of Biochem. 11, 201 (1946)
4. Zirm, K. u. Axenfeld, H.: Über eine Bindungsprobe im Serum mit Natrium-
oleat und ihre klinische Bedeutung.
Klin.Wschr., Jahrg. 32, Heft 47/48,
S. 1105-1108
Dortselbst noch weitere Literatur
5. Wirth, D.: Grundlagen einer klinischen Hämatologie der
Haustiere. 2. Auflage, S. 56
Verlag: Urban u. Schwarzenberg, Wien-
Innsbruck 1950.

Am Schlusse meiner Arbeit möchte ich
Herrn Professor Dr. K. Ullrich für die
Überlassung des Themas und die bei der
Ausführung gegebenen Anregungen danken.

Lebenslauf

Ich, Werner Hellmeier, bin am 13. November 1932 in Dachau/Bayern als dritter Sohn des praktischen Tierarztes Dr. Georg Hellmeier und seiner Ehefrau Johanna, geborene Mannert, geboren. Meine Kindheit verbrachte ich bei meinen Eltern in Allershausen bei Freising, wo ich 1939 in die Volksschule eintrat. Während meiner Volksschulzeit besuchte ich, durch Kriegswirren bedingt, die Schulen in Dachau/Obb., Vacha/Thüringen und Hemau/Opf. Im Jahre 1943 trat ich in die Oberschule für Jungen in Freising über, der ich bis 1944 angehörte. Nach Kriegsende nahm ich mein Studium im Neuen Gymnasium zu Regensburg wieder auf und legte dort im Sommer 1952 mein Abitur ab. Im Herbst dieses Jahres immatrikulierte ich mich an der tierärztlichen Fakultät der Universität München und schloß nach 9 Semestern mein Studium mit dem Staatsexamen im 1. Halbjahr 1957 ab.

